

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2024.01.009

陈红利, 赵志忠, 吴丹, 等. 海南岛尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物群落特征. 土壤, 2024, 56(1): 64–72.

海南岛尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物群落特征^①

陈红利, 赵志忠, 吴丹*, 余玉莹, 韩知序, 霍红义

(海南师范大学地理与环境科学学院, 海口 571158)

摘要: 采集海南岛尖峰岭地区低地雨林次生林、山地雨林次生林和山地雨林原始林土壤, 基于绝对定量 PCR 和高通量测序技术, 探讨了热带雨林土壤中固碳微生物群落结构的多样性与组成及其影响因素。结果表明: 固碳微生物的 Alpha 多样性与基因丰度均表现为低地雨林次生林高于山地雨林原始林; 尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物优势菌门为假单胞菌门(*Pseudomonadota*, 44.28% ~ 70.60%)和放线菌门(*Actinomycetota*, 11.95% ~ 33.73%), 优势菌属为慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, 11.53% ~ 31.06%)、诺卡氏菌属(*Nocardia*, 4.97% ~ 17.07%)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*, 4.44% ~ 12.97%)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*, 2.62% ~ 9.20%)、芽绿菌属(*Blastochloris*, 4.34% ~ 10.12%)、固氮弧菌属(*Aromatoleum*, 1.97% ~ 5.39%)、分枝菌酸杆形菌属(*Mycolicibacterium*, 1.71% ~ 3.78%)、固氮螺菌属(*Azospirillum*, 1.97% ~ 2.65%)、*Methylibium* (1.22% ~ 3.77%), 且以兼性自养菌为主。PCoA 与 LEfSe 分析表明, 热带雨林 3 个林型土壤固碳微生物群落存在差异, 其标志物种分属放线菌纲、 γ -变形菌纲、 α -变形菌纲和 β -变形菌纲。RDA 分析表明, 全氮、全磷、有机碳、易氧化有机碳是驱动尖峰岭热带雨林固碳微生物群落差异的重要影响因素。

关键词: 热带雨林; 固碳微生物; 高通量测序; *cbbL* 基因

中图分类号: S714.3 文献标志码: A

Soil Carbon Sequestering Microbial Communities in Jianfengling Tropical Rainforests of Hainan Island

CHEN Hongli, ZHAO Zhizhong, WU Dan*, YU Yuying, HAN Zhixu, HUO Hongyi

(College of Geography and Environmental Sciences, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

Abstract: Soil samples were collected from the lowland rainforest secondary forests, montane rainforest secondary forests, and montane rainforest primary forests in the Jianfengling of Hainan Island, absolute quantification PCR and high-throughput sequencing technology were used to explore the diversity and composition of carbon sequestering microbial community structure in soil and its influencing factors. The results showed that both α diversity and gene quantity of carbon-fixing microorganisms were higher in lowland rainforest secondary forest than in montane rainforest primary forest. The dominant phyla of soil carbon-fixing microorganisms in the Jianfengling rainforest were Actinomycetota (11.95%–33.73%) and Pseudomonadota (44.28%–70.60%), the dominant genera were *Bradyrhizobium* (11.53%–31.06%), *Nocardia* (4.97%–17.07%), *Mesorhizobium* (4.44%–12.97%), *Mycobacterium* (2.62%–9.20%), *Blastochloris* (4.34%–10.12%), *Aromatoleum* (1.97%–5.39%), *Mycolicibacterium* (1.71%–3.78%), *Azospirillum* (1.97%–2.65%) and *Methylibium* (1.22%–3.77%), and facultative autotrophs were predominant. PCoA and LEfSe analyses revealed the differences in soil carbon sequestration microbial communities among the three forest types of tropical rainforest, with marker species belonging to Actinomycetes, γ -Proteobacteria, α -Proteobacteria and β -Proteobacteria, respectively. RDA analysis showed that total nitrogen, total phosphorus, organic carbon and readily oxidizable carbon were important soil factors for the differences.

Key words: Tropical rainforest; Carbon sequestration microorganisms; High-throughput sequencing; *cbbL* gene

土壤是陆地生态系统中重要的有机碳库, 其碳储量约为大气中碳储量的 2 倍、植被中碳储量的 3 倍, 因而土壤碳库的微小损失可能会对未来大气 CO₂ 浓度产生重大影响^[1], 土壤碳固存问题成为当前的研究

①基金项目: 海南省院士创新平台科研专项(YSPTZX202024)和海南省研究生创新平台项目(Qhys2022-204)资助。

* 通讯作者(357488511@qq.com)

作者简介: 陈红利(1996—), 女, 贵州都匀人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物研究。E-mail: chenhongli96@foxmail.com

热点之一。

生物固碳是陆地生态系统中最直接有效的 CO₂ 固定途径^[2]，其中自养微生物是将 CO₂ 转化为有机碳的重要触发器，在土壤有机碳库的积累中起着关键作用^[3]。自养微生物具有很强的环境适应能力，广泛地分布在各生态系统中，并能在植物难以生存的各种极端环境下进行 CO₂ 的固定，如深部高盐缺氧盆地^[4]、南极常年冰封湖泊^[5]、火山沉积物^[6]等。据研究，全球陆地土壤的自养微生物每年可捕获大气 0.5% ~ 4.1% 的 CO₂，总量达 C 0.6 ~ 4.9 Gt^[7]。

在全球 CO₂ 循环中，热带雨林由于其巨大的初级生产力，是除海洋外最重要的源与汇。全球热带雨林在自然状态下是一个净汇，热带雨林的碳储量达 7.65×10¹¹ t 以上^[8]，与全球大气中的碳储量几乎相当。有研究表明，热带地区土壤碳库对温度和 CO₂ 浓度变化极为敏感^[9]，其中热带森林土壤碳库对温度变化尤为敏感^[10]，因而在全球气候变化背景下，对热带雨林土壤碳库的研究尤为重要。

尖峰岭自然保护区是我国保存最为完整的热带原始森林林区之一，属热带北缘类型，是生物多样性研究热点地区。在微生物层面，已对该保护区细菌^[11]、真菌^[12]和植物内生菌^[13]的群落特征展开了较多的研究，但关于土壤固碳微生物群落结构特征的研究尚未见报道。依据能量来源可将自养微生物分为光能自养微生物与化能自养微生物，目前探明的自养微生物固碳途径共有 6 条。其中，卡尔文循环是光能型与化能型自养微生物固定 CO₂ 的主要途径，核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(RubisCO)是该循环中的关键酶。RubisCO I 大亚基的编码基因 *cbbL* 基因具有高度的保守性^[14-15]，因而常作为固碳细菌标记物用于不同生态系统土壤固碳微生物群落特征的研究^[7,16-17]。基于以上，本研究以尖峰岭热带雨林下低地雨林次生林、山地雨林次生林和山地雨林原始林 3 种林型土壤为

研究对象，以 *cbbL* 基因为标记物，利用绝对定量 PCR 和高通量测序技术对林下土壤固碳微生物的群落结构与多样性进行分析，并对影响尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物群落变化的环境因子进行探讨，以期为提高热带雨林土壤固碳潜力和林业可持续管理提供理论依据与数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于海南省西南部尖峰岭国家级自然保护区(18°20' N ~ 18°57' N, 108°41' E ~ 109°12' E)，属低纬度热带岛屿季风气候，年均温为 19.7 °C，年均降水量 2 651.6 mm，降水集中在 5—10 月，干湿两季明显。尖峰岭自然环境十分优越，植被类型丰富，在海拔 800 m 以下地段分布着低地雨林，以青梅林、鸭脚木林以及海南榄仁、厚皮林常见，在海拔 800 ~ 1 200 m 地段分布着山地雨林，以陆均松林、海南紫荆林以及栲林常见，土壤类型以砖黄壤、黄壤为主。

1.2 样品采集

2023 年 5 月于尖峰岭低地雨林次生林(DC)、山地雨林次生林(SC)以及山地雨林原始林(SY)3 个林型进行土壤样品采集。每个林型设置 3 块样地(20 m×20 m)，各样地内设置 6 个重复，每个重复土样在去除地表约 5 cm 厚的地表植被和覆盖物后，由直径 7 cm 的土钻取 6 钻土壤混合而成，取样深度为 0 ~ 20 cm，3 种林型共采集 54 个(3×3×6)土样。新鲜土样去除植物根系和石块等侵入体，过 2 mm 筛后分成 2 份，一份用灭菌离心管封装后放入冰桶带回实验室，并于 -70 °C 冷冻保存用于分子生物学分析，另一份土样待室内自然风干后用于土壤基本理化性质的测定。样地基本情况如表 1 所示。

表 1 样地基本情况
Table 1 Basic information of sampling sites

样地	森林类型	海拔(m)	坡度(°)	土壤类型	优势种
SY1	山地雨林原始林	1 144	11	黄壤	陆均松(<i>Dacrydium pectinatum</i>)、细刺栲(<i>Castanopsis tonkinensis</i>)、九节(<i>Psychotria hainanensis</i>)
SY2	山地雨林原始林	1 097	17	黄壤	陆均松、细刺栲、九节
SY3	山地雨林原始林	1 066	15	黄壤	陆均松、细刺栲、九节
SC1	山地雨林次生林	969	28	黄壤	鸡毛松(<i>Dacrycarpus imbricatus</i>)、九节、大叶白颜(<i>Gironniera subaequalis</i>)
SC2	山地雨林次生林	900	16	黄壤	鸡毛松、九节、大叶白颜
SC3	山地雨林次生林	828	5	黄壤	鸡毛松、九节、大叶白颜
DC1	低地雨林次生林	787	28	砖黄壤	青梅(<i>Vatica mangachapoi</i>)、白茶(<i>Koilocedrus hainanensis</i>)、细子龙(<i>Amesiodendron chinensis</i>)
DC2	低地雨林次生林	640	14	砖黄壤	青梅、白茶、细子龙
DC3	低地雨林次生林	498	22	砖黄壤	青梅、蝴蝶树(<i>Heritiera parvifolia</i>)、厚皮树(<i>Lannea coromandelica</i>)

1.3 分析方法

1.3.1 土壤理化性质测定 采用酸度计测定土壤 pH, 水土比($V:m$)为 2.5:1^[18]; 土壤含水量(SWC)在 105 °C 烘箱中过夜干燥至恒重后测定, 用质量分数表示^[18]; 土壤全氮(TN)采用凯氏定氮法测定^[18]; 土壤全磷(TP)采用碱熔-钼锑抗比色法测定^[18]; 土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾-浓硫酸加热法测定^[18]; 土壤易氧化有机碳(ROC)采用高锰酸钾氧化法测定^[19]; 土壤粒径采用激光粒度仪测定^[20]。

1.3.2 土壤总 DNA 提取 采用 Powersoil DNA Isolation Kit(MOBIO.USA)试剂盒提取土壤总 DNA, 操作流程按照试剂盒说明书进行。DNA 提取完毕后, 取 2 μ L DNA 溶液使用超微量紫外可见分光光度计(Nanodrop ND1000, USA)检测浓度和纯度, 并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。

1.3.3 土壤固碳功能基因 *cbbL* 扩增与测序 固碳功能基因 *cbbL* 扩增的上游引物为 K2f(ACCAAYCAAGCCSAAGCTSGG), 下游引物为 V2r(GCCTTCSAGCTTGCCSACCRC), 片段长度为 492 ~ 495 bp。PCR 反应体系(25 μ L): 5 $\times$ Reaction Buffer 缓冲液 5 μ L, 5 $\times$ High GC Buffer 缓冲液 5 μ L, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μ L, 正、反向引物各 1 μ L, Q5 DNA 聚合酶 0.25 μ L, 模板 DNA 2 μ L, ddH₂O 8.75 μ L。PCR 反应条件: 98 °C 预变性 30 s, 使模板 DNA 充分变性, 然后进入扩增循环(98 °C 保持 15 s 使模板变性, 后降温至 50 °C 保持 30 s 退火, 在 72 °C 保持 30 s 使引物在模板上延伸合成 DNA, 完成 1 个循环), 重复循环 27 次使扩增的 DNA 片段大量累积, 最后在 72 °C 保持 5 min 使产物延伸完整, 4 °C 保存。PCR 扩增反应仪为 ABI 2720。

PCR 产物纯化后送至上海派森诺公司采用 Illumina 平台对群落 DNA 片段进行双端测序。使用 Vsearch 方法对原始测试数据进行拼接、质控、优化, 获得高质量序列, 在 97%^[21]相似度水平下对高质量序列进行聚类, 输出代表序列和操作分类单元(OTU)表, 通过比对 NT 数据库(Nucleotide Sequence Database), 对 OTU 代表序列进行物种分类注释, 得到分类鉴定结果。

1.3.4 土壤固碳细菌数量测定 采用绝对定量 PCR(AQ-PCR)方法检测固碳微生物 *cbbL* 基因丰度, 采用同上 K2f/V2r 引物。反应体系: 2 $\times$ SYBR real-time PCR premixture 10 μ L, 10 μ mol/L 上游和下游引物各 0.4 μ L。反应条件: 95 °C 预变性 5 min,

后进入扩增循环(95 °C 变性 15 s, 后降温至 60 °C 保持退火 30 s, 完成 1 个循环), 重复 40 个循环。实时荧光定量 PCR 仪: LightCycler480I.384, Roche。

1.4 数据处理与分析

使用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件对数据进行处理与统计分析, 利用单因素方差分析(one-way ANOVA)与最小显著性差异(LSD)法对各样地间变量进行多重比较($\alpha=0.05$); 使用 Origin 2021 绘制固碳基因定量丰度图, 使用 QIIME2(2019.4)程序进行固碳微生物门、属水平的群落组成分析; 采用 R 4.3.0 程序的“ape”包进行主坐标分析(PCoA)、“Vegan”包进行冗余分析(RDA), 并使用“rdacca.hp”包基于冗余分析的校正 R^2 结果进行层次分割确定单个环境变量对群落结构差异的贡献率^[22], 同时借助“ggplot2”包进行相应的绘图。

2 结果与分析

2.1 各林型土壤理化性质

尖峰岭热带雨林不同林型土壤理化性质存在差异, 山地雨林原始林土壤 pH 及 TN、SOC、ROC 含量总体上高于其他林型, 但 TP、Clay 含量低于其他林型。低地雨林次生林的 Clay、Silt 含量高于其他林型, 但 TN 含量低于其他林型。山地雨林次生林 SWC 高于其他林型, 其余指标总体上均介于其他两个林型之间(表 2)。

2.2 各林型土壤固碳微生物多样性

对各林型土壤固碳微生物进行高通量测序分析, 山地雨林原始林 3 块样地分别得到 61 007、54 305、71 572 条有效序列, 山地雨林次生林 3 块样地分别得到 62 289、654 112、617 689 条有效序列, 低地雨林次生林 3 块样地分别得到 55 801、56 152、71 950 条有效序列。可以看出, 随着测序深度的加深, 群落的 Chao1 丰富度估计指数以及 Shannon 多样性指数逐渐到达平台, 表明测序结果足够反映当前样本所包含的多样性, 已基本覆盖土壤中的所有物种(图 1)。

土壤固碳微生物群落多样性主要是由反映群落多样性的 Shannon 指数、Simpson 指数以及表征群落丰度的 Chao1 指数、Observed species 指数来表示(表 3)。3 个林型的土壤固碳微生物群落 α 多样性指数总体呈现低地雨林次生林>山地雨林次生林>山地雨林原始林趋势。除 Simpson 指数外, 山地雨林次生林与其他两个林型的多样性指数均无显著差异。

表 2 各林型土壤基本理化参数
Table 2 Soil basic physicochemical parameters under different forest types

样地	TN (g/kg)	TP (g/kg)	SOC (g/kg)	ROC (g/kg)	pH
SY1	1.85 ± 0.06 a	0.04 ± 0.00 g	25.38 ± 0.92 b	10.74 ± 0.36 b	4.38 ± 0.22 b
SY2	1.69 ± 0.06 b	0.06 ± 0.00 f	18.08 ± 0.43 e	6.90 ± 0.30 e	4.90 ± 0.18 a
SY3	1.87 ± 0.06 a	0.06 ± 0.01 f	26.73 ± 1.51 a	14.70 ± 0.57 a	3.78 ± 0.12 e
SC1	1.00 ± 0.03 f	0.12 ± 0.00 b	11.99 ± 0.16 f	5.08 ± 0.09 f	4.12 ± 0.08 d
SC2	1.50 ± 0.03 d	0.09 ± 0.01 d	19.55 ± 0.14 d	7.61 ± 0.47 d	4.17 ± 0.06 cd
SC3	1.23 ± 0.03 e	0.11 ± 0.00 c	17.55 ± 0.18 e	5.44 ± 0.18 f	4.1 ± 0.08 d
DC1	1.61 ± 0.09 c	0.10 ± 0.00 cd	22.09 ± 0.52 c	9.61 ± 0.69 c	3.77 ± 0.30 e
DC2	0.79 ± 0.03 g	0.07 ± 0.01 e	10.47 ± 0.85 g	2.88 ± 0.38 h	4.23 ± 0.09 bc
DC3	0.99 ± 0.03 f	0.19 ± 0.02 a	12.44 ± 0.49 f	3.53 ± 0.34 g	4.35 ± 0.09 bc

样地	SWC (%)	Clay (%, V/V)	Silt (%, V/V)	Find sand (%, V/V)	Coarse sand (%, V/V)
SY1	13.50 ± 1.00 ef	1.79 ± 0.04 g	19.27 ± 0.15 g	17.08 ± 0.2 d	61.65 ± 0.26 b
SY2	18.88 ± 0.85 c	1.68 ± 0.11 g	19.18 ± 2.48 g	13.34 ± 1.33 e	66.89 ± 3.60 a
SY3	16.85 ± 1.39 d	5.47 ± 0.23 c	56.98 ± 3.00 b	26.9 ± 1.32 a	11.36 ± 2.75 e
SC1	13.32 ± 1.27 f	4.15 ± 0.09 d	24.72 ± 0.51 e	22.79 ± 0.33 b	48.48 ± 1.10 d
SC2	20.17 ± 0.89 b	5.64 ± 0.36 bc	39.50 ± 1.25 c	11.45 ± 0.18 f	43.39 ± 1.69 cd
SC3	16.94 ± 1.09 d	3.74 ± 0.1 e	40.56 ± 1.52 c	13.53 ± 1.13 e	42.7 ± 2.84 d
DC1	24.72 ± 1.29 a	6.26 ± 0.11 a	73.91 ± 1.6 a	20.33 ± 1.33 c	0.18 ± 0.21 e
DC2	14.62 ± 1.15 e	3.4 ± 0.09 f	22.42 ± 0.91 f	22.53 ± 0.9 b	52.12 ± 2.08 bc
DC3	9.02 ± 0.43 g	5.77 ± 0.13 b	31.57 ± 1.24 d	20.5 ± 0.81 c	42.44 ± 2.14 bc

注：同列不同小写字母表示不同样地之间差异显著($P<0.05$)；TN：全氮；TP：全磷；SOC：土壤有机碳；ROC：土壤易氧化有机碳；SWC：土壤含水量；Clay：黏粒；Silt：粉粒；Find sand：细砂；Coarse sand：粗砂；下同。

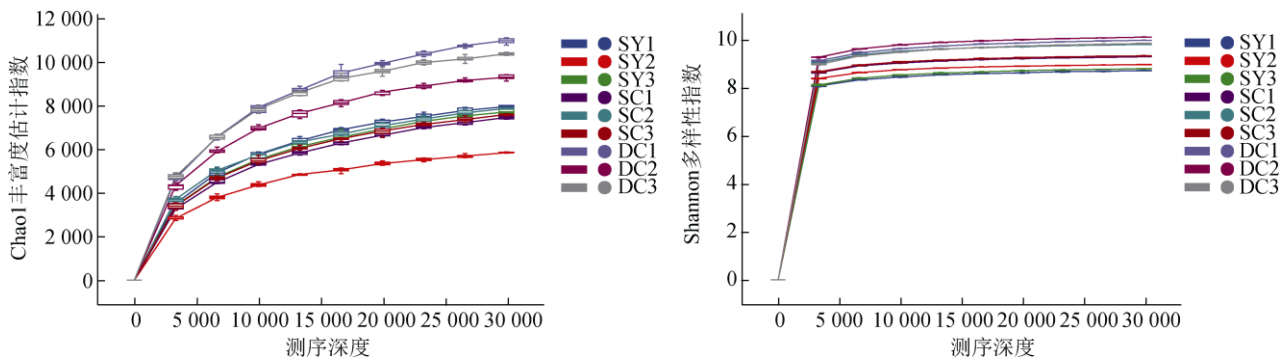


图 1 尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物稀释曲线
Fig. 1 Rarefaction curves of soil CO₂-fixing microorganisms in Jianfengling tropical rainforests

表 3 各林型土壤固碳微生物多样性指数
Table 3 Diversity indexes of soil CO₂-fixing microorganisms in different forest types

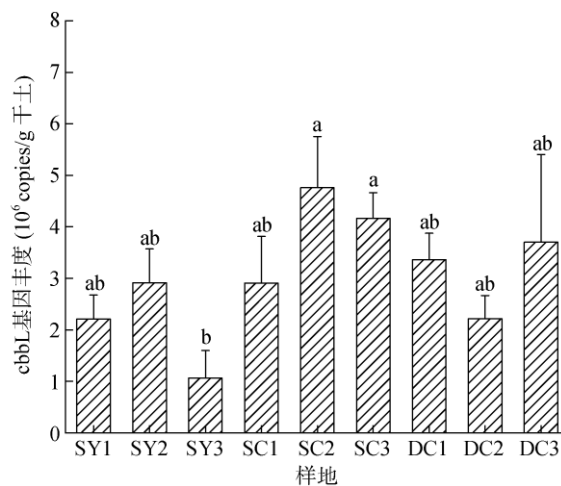
样地	Chao1 指数	Observed species 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
SY1	7 984.87 ± 387.52 ab	4 545.88 ± 228.72 ab	0.98 ± 0.00 b	8.72 ± 0.11 b
SY2	5 836.12 ± 764.70 b	3 849.12 ± 519.48 b	0.99 ± 0.00 ab	8.97 ± 0.29 ab
SY3	7 732.00 ± 317.25 ab	4 605.38 ± 182.78 ab	0.98 ± 0.00 b	8.79 ± 0.06 b
SC1	7 469.56 ± 1148.11 ab	4 473.38 ± 654.14 ab	0.99 ± 0.00 ab	9.30 ± 0.29 ab
SC2	7 884.16 ± 274.61 ab	5 065.17 ± 175.34 ab	0.99 ± 0.00 a	9.81 ± 0.07 ab
SC3	7 575.55 ± 1008.81 ab	4 594.02 ± 592.92 ab	0.99 ± 0.00 ab	9.33 ± 0.33 ab
DC1	10 980.09 ± 524.81 a	6 146.40 ± 340.06 a	0.99 ± 0.00 a	9.98 ± 0.15 a
DC2	9 316.99 ± 1189.71 a	5 781.80 ± 711.47 ab	0.99 ± 0.00 a	10.11 ± 0.33 a
DC3	10 349.47 ± 356.72 a	6 178.80 ± 261.46 a	0.99 ± 0.00 ab	9.85 ± 0.14 ab

2.3 各林型土壤固碳微生物基因丰度

绝对定量 PCR 分析结果表明(图 2), 山地雨林原始林土壤固碳微生物的基因丰度在 $1.06 \times 10^6 \sim 2.91 \times 10^6$ copies/g 干土, 山地雨林次生林基因丰度在 $2.91 \times 10^6 \sim 4.76 \times 10^6$ copies/g 干土, 低地雨林次生林基因丰度在 $2.21 \times 10^6 \sim 3.70 \times 10^6$ copies/g 干土, 基因丰度总体呈现山地雨林次生林>低地雨林次生林>山地雨林原始林, 其中 SC2、SC3 样地基因丰度显著高于 SY3 样地($P < 0.05$), 其余样地间均无显著差异。

2.4 各林型土壤固碳微生物群落组成

本研究中, 3 个林型土壤所得序列共注释到固碳微生物归属 9 个门, 15 个纲, 27 个目, 55 个科, 95 个属。门水平上(图 3A), 假单胞菌门(Pseudomonadota)和放线菌门(Actinomycetota)为各林型的主要菌门, 两大菌门在山地雨林原始林的 3 个样地中平均占比为 70.6%、11.95%, 在山地雨林次生林中平均占比为 50.76%、19.28%, 在低地雨林次生林中平均占比为 44.28%、33.73%。在属水平上(图 3B), 对前 30 个属进行分析, 慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, 11.53%~31.06%)、诺卡氏菌属(*Nocardia*, 4.97%~17.07%)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*, 4.44%~12.97%)、



(柱图上方不同小写字母表示各样地间差异显著($P < 0.05$))

图 2 各林型土壤 *cbbL* 基因丰度

Fig. 2 Abundances of *cbbL* genes in soils of different forest types

分枝杆菌属(*Mycobacterium*, 2.62%~9.20%)、芽绿菌属(*Blastochloris*, 4.34%~10.12%)、固氮弧菌属(*Aromatoleum*, 1.97%~5.39%)、分枝菌酸杆形菌属(*Mycolicibacterium*, 1.71%~3.78%)、固氮螺菌属(*Azospirillum*, 1.97%~2.65%)、*Methylibium* (1.22%~3.77%) 9 个属在各林型样地中的相对丰度均大于 1%,

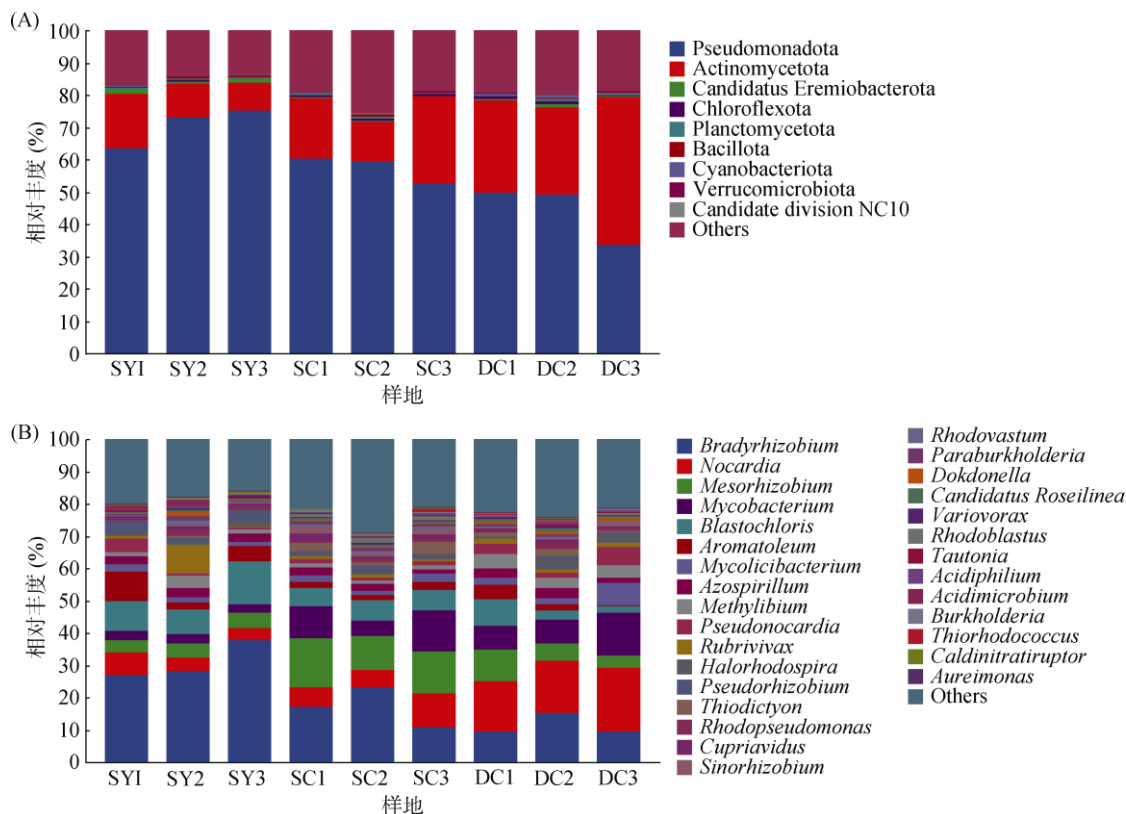


图 3 不同林型土壤固碳微生物在门(A)、属(B)水平上的群落结构组成

Fig. 3 Community structure compositions of CO_2 -fixing microorganisms at phylum(A) and genus(B) levels in soil of different forest types

为优势菌属。其中,在山地雨林原始林中主要的优势菌属为慢生根瘤菌属(31.06%)和芽绿菌属(10.12%);在山地雨林次生林中主要的优势菌属为慢生根瘤菌属(17.15%)和中慢生根瘤菌属(12.97%);在低地雨林次生林中主要的优势菌属为诺卡氏菌属(17.07%)和慢生根瘤菌属(11.53%)。

2.5 各林型土壤固碳微生物群落结构差异

本研究共得到 113 496 个 OTU。其中,样地 DC1、DC2、DC3 独有的 OTU 分别为 10 478、10 866、16 294 个,样地 SC1、SC2、SC3 独有的 OTU 分别为 6 783、9 038、7 912 个,样地 SY1、SY2、SY3 独有的 OTU 分别为 7 588、7 786、8 046 个,但仅有 232 个 OTU 由所有林型共有(图 4)。为分析群落差异情况,基于不同林型各样地 OTU 丰度进行 PCoA 分析(图 5),发现总体上各样地按林型集聚,其中山地雨林原始林的固碳微生物群落结构与另外两个林型的距离较远即差异较大,山地雨林次生林与低地雨林次生林间的群落结构差异较小。

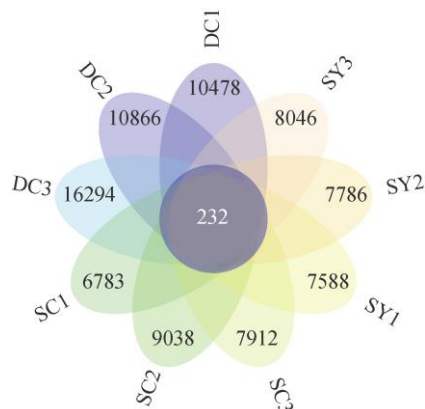


图 4 各林型土壤固碳微生物 OTU 花瓣图

Fig. 4 OTU flower of soil CO₂-fixing microorganisms in different forest types

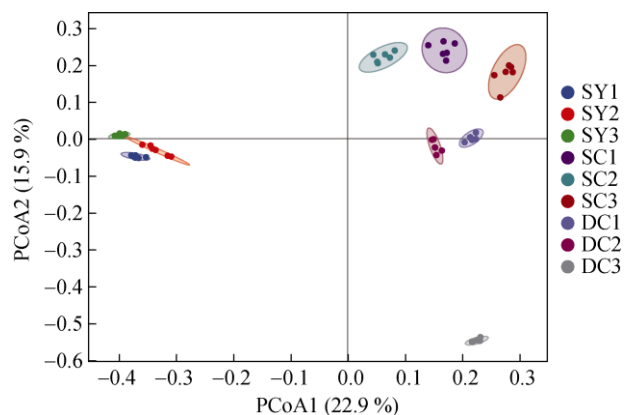


图 5 基于 OTU 丰度的 PCoA 分析

Fig. 5 PCoA analysis based on OTU abundance

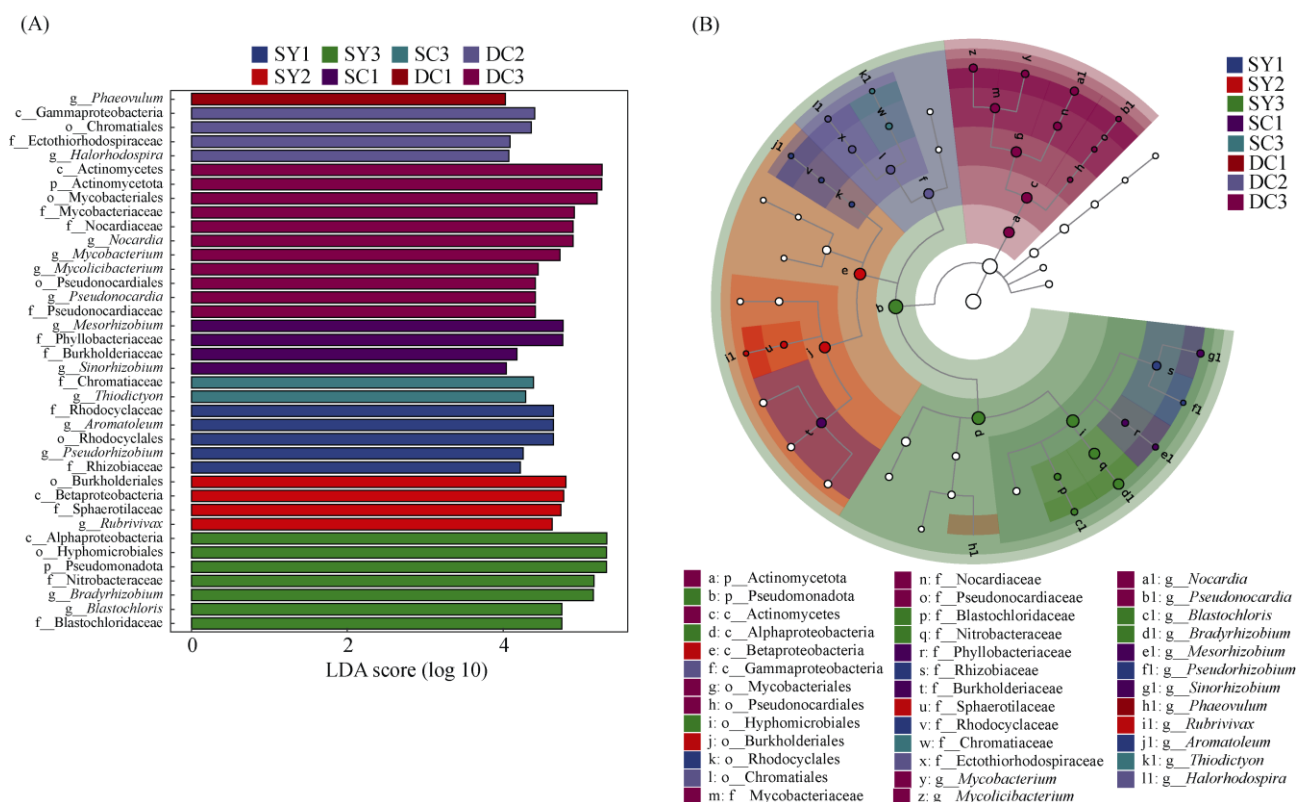
为进一步确定不同林型间的差异物种即标志物种,基于物种相对丰度进行 LEfSe 分析(LDA>4),结果显示,在不同林型间共得到 38 个差异标志物(图 6A)。在属水平上,低地雨林次生林中的标志物种为放线菌纲下的诺卡菌属(*Nocardia*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、分枝菌酸杆形菌属(*Mycolicibacterium*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、*Phaeovulum*和 γ -变形菌纲下的嗜盐红螺菌属(*Halorhodospira*),山地雨林次生林的标志物种为 γ -变形菌纲下的硫网菌属(*Thiodictyon*)、 α -变形菌纲下的中华根瘤菌属(*Sinorhizobium*)和中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*),山地雨林原始林中为 α -变形菌纲下的芽绿菌属(*Blastochloris*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、假根瘤菌属(*Pseudorhizobium*)和 β -变形菌纲下的红长命菌属(*Rubrivivax*)、固氮弧菌属(*Aromatoleum*)(图 6B)。

2.6 环境因子对固碳微生物群落的影响

为分析影响尖峰岭热带雨林土壤固碳微生物群落的影响因素,基于属水平对固碳微生物群落结构与环境因子进行了 RDA 分析,结果表明,固碳微生物群落组成与环境因子的变化显著相关(校正 $R^2=0.706$, $P=0.001$),第一、二排序轴共解释了 37.87% 的固碳微生物群落差异。其中 ROC($P=0.001$)、SOC($P=0.001$)、TP($P=0.001$)、TN($P=0.001$)、SWC($P=0.006$)、Clay($P=0.017$)、Find sand($P=0.013$)对土壤固碳微生物的属水平达到显著影响(图 7A)。环境因子贡献率表明其在驱动群落组成差异中的重要性,其中 ROC、SOC、TP、TN 对群落差异的贡献率较大,分别为 13.20%、10.25%、10.57%、11.04%(图 7B)。

3 讨论

本研究通过绝对定量 PCR 分析,在尖峰岭热带雨林中发现了相当数量的土壤固碳微生物,其 *cbbL* 基因数量高于湿地^[23]、旱地^[24],低于稻田^[2]、草原^[25],但其检出的 OTU 丰度普遍高于上述生态系统。在本系统内, *cbbL* 基因数量、群落多样性均表现为低地雨林次生林高于山地雨林原始林。目前关于森林类型对土壤微生物群落的影响机制尚无统一的结论,但大量研究表明土壤微生物多样性随着海拔的升高而减小^[11,26-27]。本研究中,样地海拔梯度较大,海拔可对区域尺度下的水热条件进行再分配,温度深刻地影响着微生物的活性与组成^[28-29],因此高海拔地区的低温可能会阻碍微生物生长并降低其多样性^[30]。一般而言,土壤有机质含量与固碳微生物数量呈正相关^[2,17]。



(A: 得分大于 4 的物种显示在柱状图中, LDA 得分越高表明差异越显著; B: 从内到外的彩色节点代表从门至属的分类学水平, 无显著差异以空心圆圈表示, 实心圆为差异物种, 圆圈的直径代表物种的丰度)

图 6 不同林型中差异物种的 LDA 得分情况(A)和进化分支图(B)

Fig. 6 LDA scores (A) and evolutionary branches of different species (B) in different forest types

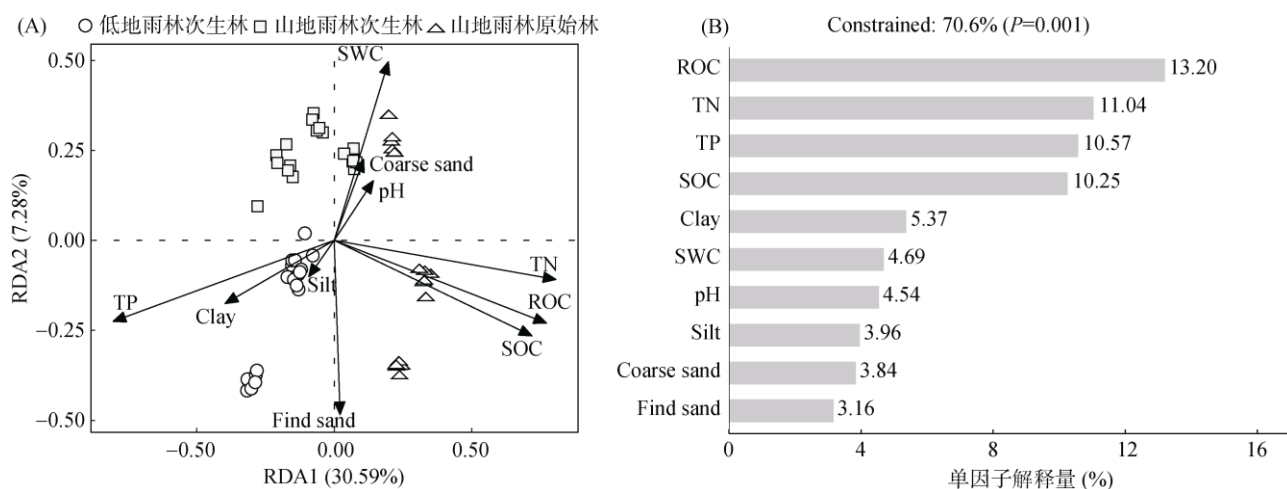


图 7 尖峰岭热带雨林固碳微生物群落结构与环境因子的冗余分析

Fig. 7 Redundancy analysis between CO₂-fixing microorganisms community structure and environmental factors in Jianfengling tropical rainforest

但本研究中山地雨林原始林表现出较低的固碳微生物数量和更高的有机碳含量, 这可能是由于低地雨林次生林多受人类活动干扰, 地上植被密度较小, 植物根系对土壤的固定能力较弱, 因而土壤中的有机质易受雨水淋溶作用而流失, 区内原始林则由于相对稳定的环境使得土壤中有机碳得

以长期积累。

尖峰岭热带雨林中的固碳微生物主要分属假单胞菌门(Pseudomonadota)和放线菌门(Actinomycetota), 这与大多数学者关于土壤固碳微生物的研究一致^[31-33]。自养固碳微生物依据碳源获取途径不同可分为专性自养微生物与兼性自养微生物, 本研究中的优势菌

属以兼性自养微生物为主, 与在火山沉积物^[6]、毛竹林^[33]以及农田^[34]中关于土壤固碳微生物的研究结果一致, 如慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、*Methylibium* 等均为兼性自养菌^[6,35-36]。专性自养菌以 CO₂ 为碳源, 利用光或无机物(硫化氢、铵盐、氢气等)氧化产生的化学能作为能量自养生长, 而兼性自养菌能适应更多的环境条件, 其还可利用有机物为碳源, 从光与有机物的氧化中获得能量进行异养生长, 如在各林型中均为优势种群的慢生根瘤菌, 既可以利用 CO₂ 为碳源, 以氢气为供氢体还原 CO₂ 合成有机质进行自养生长, 还可利用有机酸为碳源进行异养生长^[37]。因而, 在有机物质与无机物质共存的土壤环境中, 适应能力更强的兼性自养菌成为土壤中优势的固碳种群。

本研究中, TN、TP 以及 SOC、ROC 解释了较多的固碳微生物群落差异, 是驱动尖峰岭热带雨林固碳微生物群落结构变化的重要环境因子, 这与当前多数的研究结果一致^[7,31-32]。但当前许多研究表明 pH 是影响土壤固碳微生物群落结构的重要环境因子, 如在 Qin 等^[25]、苏鑫等^[32]、刘彩霞等^[33]的研究中分别在 pH 5.82 ~ 7.19、6.43 ~ 6.61、3.99 ~ 4.48 发现土壤固碳微生物群落结构受到 pH 的显著影响, 但本研究中土壤 pH 在 3.77 ~ 4.90, 表现为对土壤固碳微生物群落无显著影响, 这可能是由于在各环境因子的综合作用下掩盖了 pH 对土壤固碳微生物群落结构的影响, 具体情况还有待进一步研究。

4 结论

尖峰岭热带雨林生态系统中低地雨林次生林土壤固碳微生物群落的多样性与数量均高于热带雨林原始林, 但或因热带雨林原始林拥有更稳定的固碳环境导致其有机碳含量更高, 这表明低地雨林次生林有相当的固碳潜力, 后续森林管理中建议加大对低地雨林次生林的保护。在群落组成方面, 尖峰岭热带雨林固碳微生物组成十分丰富, 主要分属放线菌门与假单胞菌门两大菌门, 优势菌属以兼性自养菌为主。热带雨林中各林型固碳微生物群落结构差异较大, 具体表现为低地雨林次生林、山地雨林次生林二者与山地雨林原始林的差异较突出, TN、TP、SOC、ROC 是驱动固碳微生物群落差异的重要因素。

参考文献:

- [1] Smith P, Fang C M, Dawson J J C, et al. Impact of global warming on soil organic carbon[J]. *Advances in Agronomy*, 2008, 97: 1–43.
- [2] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 长期施肥对稻田土壤固碳功能菌群落结构和数量的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(1): 183–189.
- [3] 孔亚丽, 秦华, 朱春权等. 土壤微生物影响土壤健康的作用机制研究进展[J/OL]. *土壤学报*: 1–19 [2023-12-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20230621.2004.002.html>.
- [4] Van Der Wielen P W J J. Diversity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes in the MgCl₂-dominated deep hypersaline anoxic basin discovery[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 259(2): 326–331.
- [5] Kong W D, Ream D C, Priscu J C, et al. Diversity and expression of RubisCO genes in a perennially ice-covered Antarctic Lake during the polar night transition[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12): 4358–4366.
- [6] Nanba K, King G M, Dunfield K. Analysis of facultative lithotroph distribution and diversity on volcanic deposits by use of the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(4): 2245–2253.
- [7] 刘茗, 曹林桦, 刘彩霞, 等. 亚热带 4 种典型森林植被土壤固碳细菌群落结构及数量特征[J]. *土壤学报*, 2021, 58(4): 1028–1039.
- [8] 张洪波, 管东生, 郑淑颖. 热带雨林的碳循环及其意义[J]. *热带地理*, 2001, 21(2): 178–182.
- [9] Cox P M, Pearson D, Booth B B, et al. Sensitivity of tropical carbon to climate change constrained by carbon dioxide variability[J]. *Nature*, 2013, 494(7437): 341–344.
- [10] Nottingham A T, Meir P, Velasquez E, et al. Soil carbon loss by experimental warming in a tropical forest[J]. *Nature*, 2020, 584(7820): 234–237.
- [11] 黄正谊, 苏延桂, 黄刚, 等. 尖峰岭热带天然林不同土层细菌群落多样性和组成的海拔变异规律[J]. *生态学报*, 2023, 43(7): 2891–2902.
- [12] 林思诺, 苏延桂, 吕坤, 等. 尖峰岭热带森林土壤真菌群落的海拔变化格局及驱动因素[J]. *应用生态学报*, 2023, 34(2): 349–358.
- [13] 吴春玲, 罗竹慧, 李意德, 等. 热带山地雨林木本豆科和樟科植物叶内生细菌群落: 物种与功能群多样性及驱动因子[J]. *生物多样性*, 2023, 31(8): 73–82.
- [14] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 等. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676–1689.
- [15] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 固碳微生物分子生态学研究[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(14): 2951–2958.
- [16] 刘琼, 魏晓梦, 吴小红, 等. 稻田土壤固碳功能微生物群落结构和数量特征[J]. *环境科学*, 2017, 38(2): 760–768.

- [17] Bu L Y, Peng Z H, Tian J, et al. Core autotrophic microbes drive functional stability of soil *cbbL*-containing autotrophic microbes during desertification[J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 190: 105027.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Blair G J, Lefroy R D B, Lise L. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1995, 46(7): 1459–1466.
- [20] 庞奖励, 乔晶, 黄春长等. 前处理过程对汉江上游谷地“古土壤”粒度测试结果的影响研究[J]. *地理科学*, 2013, 33 (06): 748–754.
- [21] 张红雪, 朱巧莲, 郭力铭, 等. 烟秆生物质炭与化肥配施对植烟土壤有机碳组分及微生物的影响[J]. *土壤*, 2022, 54(6): 1149–1156.
- [22] Lai J S, Zou Y, Zhang J L, et al. Generalizing hierarchical and variation partitioning in multiple regression and canonical analyses using the *rdacca.hp* R package[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2022, 13(4): 782–788.
- [23] 曹煦彬, 林娣, 蔡璐, 等. 鄱阳湖南矶山湿地不同植被类型对土壤碳组分、羧化酶及 *cbbL* 基因的影响[J]. *土壤学报*, 2017, 54(5): 1269–1279.
- [24] Tang Z X, Fan F L, Wan Y F, et al. Abundance and diversity of RuBisCO genes responsible for CO₂ fixation in arid soils of northwest China[J]. *Pedosphere*, 2015, 25(1): 150–159.
- [25] Qin J, Li M, Zhang H F, et al. Nitrogen deposition reduces the diversity and abundance of *cbbL* gene-containing CO₂-fixing microorganisms in the soil of the *Stipa baicalensis* steppe[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 570908.
- [26] Ji L, Shen F Y, Liu Y, et al. Contrasting altitudinal patterns and co-occurrence networks of soil bacterial and fungal communities along soil depths in the cold-temperate montane forests of China[J]. *CATENA*, 2022, 209: 105844.
- [27] Luo Z M, Liu J X, Zhao P Y, et al. Biogeographic patterns and assembly mechanisms of bacterial communities differ between habitat generalists and specialists across elevational gradients[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 169.
- [28] 常琳溪, 梁新然, 王磊, 等. 中国稻田土壤有机碳汇特征与影响因素的研究进展[J]. *土壤*, 2023, 55(3): 487–493.
- [29] Zhou J Z, Deng Y, Shen L N, et al. Temperature mediates continental-scale diversity of microbes in forest soils[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12083.
- [30] Zhu B J, Li C N, Wang J M, et al. Elevation rather than season determines the assembly and co-occurrence patterns of soil bacterial communities in forest ecosystems of Mount Gongga[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(17): 7589–7602.
- [31] Wang X Y, Li W, Xiao Y T, et al. Abundance and diversity of carbon-fixing bacterial communities in Karst wetland soil ecosystems[J]. *CATENA*, 2021, 204: 105418.
- [32] 苏鑫, 郭迎岚, 卢嫚, 等. 3 种碳添加对退化农田土壤固碳细菌群落结构多样性的影响[J]. *环境科学学报*, 2020, 40(1): 234–241.
- [33] 刘彩霞, 周燕, 徐秋芳, 等. 毛竹林集约经营对土壤固碳细菌群落结构和多样性的影响[J]. *生态学报*, 2018, 38(21): 7819–7829.
- [34] 钱明媚, 肖永良, 彭文涛, 等. 免耕水稻土固定 CO₂ 自养微生物多样性[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(12): 3754–3761.
- [35] 周集体, 王竞, 杨凤林. 微生物固定 CO₂ 的研究进展[J]. *环境科学进展*, 1999(1): 1–9.
- [36] 张双双, 靳振江, 贾远航, 等. 岩溶地区不同土地利用方式土壤固碳细菌群落结构特征[J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 412–420.
- [37] Falcone D L, Tabita F R. Expression and regulation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Xanthobacter flavus* CO₂ fixation genes in a photosynthetic bacterial host[J]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175(3): 866–869.